Ueber die

Methoden zur Bestimmung von Hippursäure und Benzoesäure im Harne; über die Zusammensetzung des hippursauren und benzoesauren Eisen-Oxyds; über Darstellung beider Säuren aus dem Harne der Herbivoren.

Inaugural-Dissertation

zur

ERLANGUNG DER DOCTOR-WÜRDE

bei der

hochlöblichen philosophischen Facultät der kgl. Ludwigs-Maximilians-Universität München

eingereicht

von

Heinrich Putz

aus Vohenstrauss, Rector der Kreisgewerbschule Passau.

München 1877.

J. G. WEISS' Buchdruckerei (G. Schöninger) in München.

Ueber die

Methoden zur Bestimmung von Hippursäure und Benzoesäure im Harne; über die Zusammensetzung des hippursauren und benzoesauren Eisen-Oxyds; über Darstellung beider Säuren aus dem Harne der Herbivoren.

Inaugural-Dissertation

zur

ERLANGUNG DER DOCTOR-WÜRDE

bei der

hochlöblichen philosophischen Facultät der kgl. Ludwigs-Maximilians-Universität München

eingereicht

von

Heinrich Putz

aus Vohenstrauss, Rector der Kreisgewerbschule Passau.

München 1877.

J. G. WEISS' Buchdruckerei (G. Schöninger) in München.

Seinem hochverehrten Lehrer

HERRN

Dr. Emil Erlenmeyer,

Professor der Chemie und Vorstand der chemisch-technischen Abtheilung am k. Polytechnikum zu München,

a. o. Mitglied der k. bayer. Akademie der Wissenschaften,
Ritter des bayer. Verdienstordens vom hl. Michael und
des kaiserl. russ. St. Anna-Ordens,

als Zeichen der Dankbarkeit und Hochachtung

Der Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554608_0024

Während für die meisten normalen Harnbestandtheile rasche und hinreichend genaue Methoden der quantitativen Bestimmung, insbesondere auch Titrir-Methoden, bekannt und im Gebrauche sind, ist es bislang noch nicht gelungen, für die Hippursäure, diesen so wichtigen Bestandtheil des Harnes pflanzenfressender Thiere, solche aufzufinden. Auch die einzige zur Zeit gebräuchliche Bestimmung der Hippursäure durch Eindampfen des Harns, Ausfällen mit Salzsäure oder Ausziehen des angesäuerten Abdampf-Rückstandes mit Aether ist nicht auf ihre Genauigkeit geprüft worden. —

Im Jahre 1859 hat *Wreden* (J. f. p. Ch. Bd. 77 pag. 446) eine Titrirmethode angegeben, deren Grundlage die Unlöslichkeit des hippursauren Eisenoxyds bildete. Wreden gibt an, dass eine neutrale Lösung eines hippursauren Alkalis, durch eine neutrale Eisenchloridlösung ausgefällt, ein Filtrat gibt, worin Schwefelcyankalium keine Eisenreaktion hervorbringe. Der Niederschlag soll nach ihm genau der Formel $C_{54} H_{24} Fe_2 N_3 O_{18}$ entsprechen. Zur Bestimmung der Hippursäure im Harne lässt er zu diesem nach Entfernung der Phosphorsäure, Schwefelsäure etc. durch salpetersauren Baryt und Barytwasser und nach genauer Neutralisation eine titrirte Eisenchloridlösung geben. Das Ende der Reaktion soll auf einem mit Ferrocyankalium getränkten Stücke Filterpapier erkannt werden, gegen welches man ein doppeltes Stückchen Filterpapier mit einem Glasstabe drückt, an dem ein Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit hängt. —

Im Jahre 1862 haben Henneberg, Stohmann und Rautenberg (Ann. d. Ch. u. Ph. Bd. 124 pag. 181) die von Wreden angegebene Methode der Hippursäurebestimmung bei ihren Untersuchungen über die Zusammensetzung des Harnes pflanzenfressender Thiere benutzen wollen. Sie zeigte sich jedoch als unbrauchbar. Zunächst beobachteten dieselben, dass eine verdünnte, völlig neutrale Lösung von Eisenchlorid so von der Faser des Papiers zersetzt wird, dass das darunterbefindliche Blutlaugensalzpapier keine Spur einer Eisenreaktion mehr erkennen lässt. — Ferner ist es ihnen mit gewöhnlichem Eisenchloride nicht gelungen, selbst bei Lösungen von reinen hippursauren Alkalien und Erdsalzen den Endpunkt der Reaktion mit Sicherheit zu erkennen. Bessere Resultate wollen sie bei Anwendung von salpetersaurem Eisenoxyde erhalten haben, nachdem durch salpetersaures Blei der grösste Theil des Farbstoffes etc. entfernt wurde. Den Harn neutralisirten die Genannten zunächst mit Salpetersäure, vertrieben die Kohlensäure durch Kochen, gaben etwas kohlensauren Kalk zu, sodann salpetersaures Blei im Ueberschuss. Das Filtrat wurde mit dem salpetersauren Eisen titrirt. Zur Erkennung der Endreaktion brachten sie einen Tropfen des gefällten Harns auf einem Teller mit einem Tropfen einer Lösung des Ferrocyankaliums zusammen. In einigen Fällen trat die blaue Färbung mit Blutlaugensalz am Ende der Reaktion auf dem entstandenen Streifen von Ferrocyanblei scharf und deutlich auf einmal hervor. In anderen Fällen zeigte der Streifen von Ferrocyanblei schon nach Zusatz weniger CC. Eisenlösung nach einigen Augenblicken einen bläulichen Anflug, wahrscheinlich in Folge einer vorgängigen Reduktion des Eisenoxydes durch Bestandtheile der Harnflüssigkeit. In Folge dieser Unsicherheit des Titrirverfahrens kehrten die obengenannten Chemiker wieder zur Fällungs-Gewichtsmethode

zurück und vervollständigten sie dahin, dass in jedem einzelnen Falle das Volumen des Filtrats sammt Waschwasser gemessen, und hienach eine Correktion an dem Gewichte der trockenen Hippursäurekrystalle angebracht wurde. Für je 6 CC. Filtrat wurden 10 Milligramm zu der gewogenen Menge hinzuaddirt. Ein Theil Hippursäure löst sich nämlich in 600 Thl. Wasser. —

Ueber die Zusammensetzung des Niederschlages, der durch Eisenchlorid in der Lösung eines neutralen hippursauren Salzes entsteht, hat Salkowski 1867 eine Arbeit in dem J. f. p. Ch. Bd. 102 pag. 327 veröffentlicht. Er hat beobachtet, dass hiebei Hippursäure frei wird, der Niederschlag demnach nicht die von Wreden angegebene Zusammensetzung haben könne, sondern basisch sein müsse. Die Analyse des völlig ausgewaschenen, bei 105° C. getr. Niederschlages ergab eine Zusammensetzung, die der Formel $Fe_2 O_3 2 (C_{18} H_8 NO_5)$ entspricht. $Fe_2 Cl_3 + 3 Na O (C_{18} H_8 NO_5) + HO$ setzen sich sonach um in $Fe_2 O_3 2 (C_{18} H_8 NO_5) + C_{18} H_9 NO_6 + 3 Na Cl$. Ferner gibt Salkowski im Widerspruche mit Wreden an, dass hippursaures Eisen in Wasser nicht ganz unlöslich sei; denn versetze man eine grössere Quantität eines hippursauren Salzes auch nur mit einigen Tropfen Eisenchlorid, so könne durch Schwefelcyankalium bereits Eisen im Filtrate nachgewiesen werden. Die versuchte Darstellung von Hippursäure aus Harn durch Fällung mit Eisenchlorid ist Salkowski nicht gelungen. Der aus Harn erhaltene Niederschlag weiche in seinen Eigenschaften erheblich von reinem hippursauren Eisenoxyde ab und soll nur wenig Hippursäure enthalten. —

Ehe ich noch mit diesem resultatlosen Versuche Salkowskis bekannt geworden war, hatte ich schon mehrere Versuche gemacht zur Darstellung von Hippursäure, beziehungsweise Benzoesäure, aus Harn in grösserem Massstabe nach einer andern als der bisher üblichen unbequemen Methode des

Abdampfens. Ich hatte unter gewissen Bedingungen durch Fällung der Hippursäure mit Eisenchlorid ganz befriedigende Resultate erhalten. Dieser Erfolg veranlasste mich, die vorausgeschickten, sich einander widersprechenden Angaben in der bisherigen Literatur über hippursaures Eisenoxyd etc. näher zu vergleichen und zu prüfen. —

I. Hippursaures Eisenoxyd.

Wreden gibt an, dass Eisenchlorid, völlig neutral, in einer völlig neutralen Lösung von hippursaurem Natron die Hippursäure ausfälle, ohne dass im Filtrate durch Schwefelcyankalium Eisen nachgewiesen werden könne. Salkowski dagegen hatte in einem solchen Filtrate Eisen nachweisen können, ehe noch alle Hippursäure ausgefällt war. Ueberdiess beobachtete er darin das Auftreten von freier Hippursäure. Salkowski sagt, dass er „möglichst“ neutrales Eisenchlorid angewendet habe.

Diese verschiedenen Resultate — so dachte ich zunächst — könnten dadurch veranlasst worden sein, dass Salkowski eben doch keine völlig neutrale Eisenchlorid-Lösung gehabt habe. Denn die Darstellung einer wirklich neutralen Eisenchlorid-Lösung erfordert ziemlich viel Aufmerksamkeit. Desshalb war ich zunächst darauf bedacht, eine solche herzustellen. — Klavierdraht wurde in Salzsäure gelöst und darauf gesehen, dass nach Beendigung der Wasserstoff-Entwicklung ein Ueberschuss von Eisendraht vorhanden war. In die davon abgegossene Eisenchlorürlösung wurde bis zur völligen Sättigung Chlorgas eingeleitet, das gut gewaschen und schliesslich noch durch Chlorkalklösung gegangen war. Durch gelindes Erwärmen im Wasserbade wurde sodann das überschüssige Chlor ausgetrieben. Eine Eisen- und eine Chlor-Bestimmung

ergaben, dass das so dargestellte Eisenchlorid vollkommen neutral war. Unter den hippursauren Salzen wählte ich für die Fällungsversuche das Kalksalz, da sich eine Lösung dieses vermittelst des reinen gefällten kohlensauren Kalkes bequemer genau neutral herstellen lässt. 17.9 gr. (ein $\frac{1}{10}$ Aequivalent) reine Hippursäure (aschenfrei und frei von Salzsäure) wurde mit 5 gr. kohlensauren Kalkes aufgelöst und zum Liter aufgefüllt. Hiebei hat man zugleich eine Controle für die Reinheit der Säure, da 5 kohlensaurer Kalk gerade zur Neutralisation von 17,9 Hippursäure hinreichen müssen. Ein Versuch mit diesen sorgfältigst bereiteten Lösungen zeigte sofort, dass nach Zusatz einiger CC. der verdünnten Eisenchlorid-Lösung zu der Lösung des hippursauren Kalksalzes im Filtrate freie Hippursäure vorhanden war. Dagegen konnte keine Eisenreaktion, weder mit gelbem Blutlaugensalz noch mit Rhodankalium, erhalten werden, was mit Wredens Angabe übereinstimmt.

Nunmehr lag die Vermuthung nahe, dass Wreden vielleicht ein basisches Eisenchlorid zur Fällung verwendet habe, und dass durch solches die Hippursäure völlig gefällt wird ohne gleichzeitiges Auftreten von freier Säure. Denn sehr leicht wird eine Eisenchlorid-Lösung durch zu starkes Erwärmen basisch. — Eine weitere Stütze dieser Vermuthung schien mir die Angabe Hennebergs, Stohmanns, Rautenbergs Ann. d. Ch. u. Ph. Bd. 124 p. 181, dass sie mit salpetersaurem Eisenoxyde zuweilen günstigere Resultate beim Titriren der Hippursäure erhalten hätten. Salpetersaures Eisenoxyd ist nämlich noch schwieriger als Eisenchlorid neutral zu erhalten. Bei Anwendung eines basischen Eisenchlorides von der Zusammensetzung $2\,Fe_2\,Cl_3, Fe_2\,O_3$ dürfte die Umsetzung wohl in nachstehender Weise als möglich erscheinen:

$2\,Fe_2\,Cl_3, Fe_2\,O_3 + 6\,Na\,O(C_{18}\,H_8\,NO_3) = [3\,Fe_2\,O_3, 2(C_{18}\,H_8\,NO_3)] + 6\,Na\,Cl.$

Bei Anwendung von weniger basischen Chloriden dürfte vielleicht das Freiwerden von Säure beginnen, und deren Menge successive, proportional der abnehmenden Basicität des Eisenchlorides wachsen. Ist dagegen das Eisenchlorid stärker basisch, so könnten etwa auch die Niederschläge um so mehr basisch sein. —

Bei Fällung mittelst einer neutralen Eisenchloridlösung gibt Salkowski den Verlauf der Umsetzung folgend an:

$Fe_2 Cl_3 + 3 Na O (C_{18} H_8 NO_5) + HO = Fe_2 O_3, 2 (C_{18} H_8 NO_5) + C_{18} H_9 NO_6 + 3 Na Cl.$

Nach Wreden würde folgende Umsetzung stattfinden:

$Fe_2 Cl_3 + 3 Na O (C_{18} H_8 NO_5) = Fe_2 O_3, 3 (C_{18} H_8 NO_5) + 3 Na Cl.$

(Zur leichteren Vergleichung mit den beiden letzteren Reaktionsformeln sind die vorausgehenden ebenfalls nach alter Schreibweise aufgestellt worden).

Es wurde zuerst das *basische Chlorid* $2 Fe_2 Cl_3 . Fe_2 O_3$ hergestellt, indem in die neutrale Lösung des Eisenchlorids von bestimmtem Eisengehalte, die nöthige, genau abgewogene Menge kohlensauren Kalkes gegeben wurde. Unter Entweichen der Kohlensäure löste sich das anfangs entstandene Eisenoxydhydrat beim Schütteln völlig auf; die Flüssigkeit wurde dunkler braun.

Einige CC. dieser Flüssigkeit wurden zu einer grösseren Menge der Lösung des hippursauren Kalkes gesetzt. Obschon die Ausfällung noch lange nicht beendet war, zeigte sich in dem Filtrat doch schon *freie Säure* aber keine Eisenreaktion. Erst wenn durch Eisenchlorid keine weitere Fällung mehr eintrat, wurde sie erhalten.

Demnach verläuft die Reaktion in anderer Weise, als oben vermuthet wurde; der Niederschlag muss basischer sein, als der Formel $Fe_2 O_3 . 2 (C_{18} H_8 NO_5)$ entspricht.

Es wurde ferner das *basische Chlorid* $Fe_2Cl_3.Fe_2O_3$ in derselben Weise hergestellt, und eine völlig klare Lösung erhalten. Auch bei diesem zeigte die hippursaure Kalklösung nach Zusatz einiger CC. schon saure Reaktion, ohne dass Eisen im Filtrat nachzuweisen war. Wurde Eisenchlorid zugesetzt, bis in einer abfiltrirten Probe Reaktion mit Rhodankalium eintrat, und dann filtrirt, so trat auf weiteren Zusatz von Eisenchloridlösung abermals nach *einiger* Zeit Fällung ein. Die freie Hippursäure bringt also nach *einiger* Zeit in solchen basischen Chloriden Fällung hervor. Neutrales Eisenchlorid wird von freier Hippursäure *nicht* gefällt.

Es wurde endlich noch das bas. Chlorid von der Zusammensetzung $Fe_2Cl_3.2Fe_2O_3$ hergestellt. Der anfangs auf Zugabe der erforderlichen Menge kohlens. Kalkes in grosser Menge entstandene Niederschlag von Eisenoxydhydrat löste sich nach längerem Schütteln auch diessmal völlig zur klaren, sehr dunkel gefärbten Flüssigkeit. Bei der Fällung der hippursauren Kalklösung wurde das nämliche Resultat wie vorhin erhalten. Somit entstehen durch basische Chloride Niederschläge, die allerdings um so basischer sein müssen, je basischer das angewendete Eisenchlorid war; Säure wird aber dabei *stets* frei. Die freigewordene Hippursäure kann durch weiteren Zusatz von bas. Eisenchlorid ebenfalls noch zum Theil ausgefällt werden. Das Filtrat reagirt in den aufgeführten Fällen niemals sogleich auf Eisen. Ob diese Reaktion indess nicht schon früher eintritt als die Fällung beendet ist, darüber müssen weitere Versuche entscheiden. —

So viel ist nach diesen bisher ausgeführten Versuchen sicher, dass die Reaktionsgleichung nach Wredens Angabe unter keiner Bedingung richtig sein kann und dass natürlich ebenso die Angabe von der gefundenen Zusammensetzung des Niederschlages auf Irrthum beruht. — Es wurde zum

Zwecke einer genauen Analyse des hippursauren Eisenoxyds solches mittelst neutraler Chloridlösung erzeugt aus einer $^1/_{10}$ Normal-hippursauren Kalklösung. Beim Auswaschen des Niederschlages auf dem Filter zeigte sich, was Salkowski nicht bemerkt zu haben scheint, dass derselbe durch Wasser *Zersetzung* erleidet, indem eine *saure, eisenhaltige Lösung* durchgeht und das Filtrat sich alsbald trübt. Wäscht man zuerst mit concentrirter Kochsalzlösung die anhängende freie Säure fort, so reagirt das Filtrat auf Blutlaugensalz nicht oder kaum merklich; nimmt man aber dann Wasser zum Waschen, so reagirt das Filtrat alsbald stark sauer, gibt die Blutlaugensalzreaktion entschieden und trübt sich bald. Salkowskis Reaktionsformelgleichungen für die Bildung des Niederschlags kann demnach auch nicht richtig sein, da seine Analyse sich auf einen *durch Wasser zersetzten, basischer gewordenen Niederschlag* bezieht. Zugleich gibt diese Thatsache den Schlüssel zur Erklärung der Verschiedenheit der Angaben bezüglich der Eisenreaktion im Filtrat. Eine *concentrirte* Lösung eines hippursauren Salzes mit wenig Eisenchlorid (also *unvollständig)* gefällt, wird keine Eisenreaktion geben können, weil der Niederschlag in der concentrirten Salzlösung (hippurs. Kalk) unlöslich ist, beziehungsweise nicht zersetzt wird. Dagegen in einer *verdünnteren* wird die Reaktion um so eher eintreten müssen — je nach dem Grade der Verdünnung, d. h. je nach dem Gehalte an Salz. Wreden hat wahrscheinlich mit concentrirter, Salkowski mit sehr verdünnter hippursaurer Salzlösung gearbeitet. Die in dieser Richtung ausgeführten Versuche bestätigten meine Vermuthung vollständig. *Bei concentrirter Lösung* hippursauren Salzes war bis zur fast völligen Ausfällung keine Eisenreaktion wahrzunehmen; um so eher dagegen, *je verdünnter die Lösung* genommen wurde. In einer concentrirten Lösung trennt sich der Niederschlag auch

schön von der Flüssigkeit, in verdünnter nicht; die Flüssigkeit bleibt unklar und lässt sich bei sehr grosser Verdünnung auch schwer klar filtriren. Der entstehende Niederschlag dürfte demnach eine verschiedene Zusammensetzung haben je nach der Concentration der angewendeten hippursauren Salzlösung. Die ursprüngliche Zusammensetzung eines Niederschlages von hippurs. Eisenoxyd aus concentrirter Lösung erhalten, lässt sich nach Salkowskis Methode nicht ermitteln, weil er beim Auswaschen Zersetzung erleidet. In der Folge war ich bemüht, die Zusammensetzung solcher Niederschläge durch Zusammengiessen titrirter Lösungen von hippurs. Kalk und Eisenlösung zu constatiren. Dabei sind vorerst mehrere Schwierigkeiten zu beseitigen. Zur Erkennung einer völligen gegenseitigen Zersetzung beider Flüssigkeiten — ohne Anwendung eines Ueberschusses — bedarf es zunächst einer brauchbaren Reaktion. Rhodankalium oder Blutlaugensalz kann nicht gebraucht werden, da ja die Eisenreaktion etwas früher eintritt, als das hippurs. Salz völlig zersetzt ist. Ausserdem ist die Filtration durch Papier in der von Wreden angegebenen Weise durchaus unbrauchbar, da wie bereits Henneberg und Stohmann angaben, verdünnte neutrale Eisenchlorid-Lösung von der Faser des Papiers so zersetzt wird, dass der filtrirte Tropfen auf Blutlaugensalz nicht mehr reagirt. Kleine Quantitäten fortwährend durch ein kleines Filterchen wegzunehmen bis im Filtrat durch Eisen kein Niederschlag mehr entsteht, ist ebenfalls unstatthaft wegen des zu grossen Verlustes, und Filtration der ganzen Flüssigkeit nach dem jedesmaligen Zusatze einiger CC. Eisenchlorid ebenfalls zu zeitraubend und ungenau. —

Desshalb ersann ich mir eine sehr einfache Vorrichtung, die das Ende der Fällung zu constatiren ermöglichte. Dieselbe hat sich in der That sehr brauchbar erwiesen und, wie

sich zeigen wird, setzte sie mich in die Lage, Eisenchlorid zum Titriren des Harns auf Hippursäure anwenden zu können; ja ich hoffe mit Hilfe derselben sogar alle Fällungsanalysen, die bisher Mangels eines geeigneten Indicators zur Titration unbrauchbar waren, in die Titrirmethoden umzuwandeln.

Diese einfache Vorrichtung nenne ich ein *Asbesttropfenfilter*, weil sich einige Tropfen leicht und rein von der zu prüfenden Flüssigkeit ohne Verlust abfiltriren, prüfen und nachher der ganzen Flüssigkeit wieder zusetzen lassen. Es ist ein Glasröhrchen von beistehender Form in natürlicher Grösse. Im untern Theile b, der trichterförmig geformt ist, wird ein Asbestpfröpfchen, nicht zu fest, eingeschoben. Man legt Asbest (langfaserigen) auf eine Glasplatte, benetzt mit Wasser und drückt dann mit einem Glasstab die Fasern auseinander, welche unter diesen Verhältnissen nicht zerbrechen; nimmt dann eine kleine Portion und schiebt sie in das Trichterchen. Glaswolle ist natürlich ebenfalls brauchbar. Saugt man nun etwas *Wasser* oder besser Kochsalzlösung, (um einer Zersetzung des Niederschlages durch das adhärirende Wasser vorzubeugen) bei a durch das Trichterchen an, so reinigt sich das Pfröpfchen von den kleinen Asbestfasern. Das Wasser wird sodann entfernt. Durch Ansaugen der zu filtrirenden Flüssigkeit bringt man einige Tropfen ganz klar in das Röhrchen. Bringt man jetzt eine *kleine* (denn der Niederschlag ist in einer grösseren Menge von Eisenchlorid löslich) Quantität des Fällungsmittels ebenfalls in das Röhrchen, so zeigt sich sehr scharf, ob noch weiter eine Fällung hervorgebracht wird. Den Inhalt des Röhrchens kann man leicht wieder mit der Gesammtflüssigkeit vereinigen ohne einen nennenswerthen Verlust zu erleiden.

Nach einiger Uebung gelangt man leicht dahin, mit wenigen solchen vorräthigen Röhrchen eine Fällung rasch und sicher zu Ende zu bringen. Die Röhrchen sind leicht wieder zu reinigen und mit neuen Asbestpfröpfchen zu versehen. Zwar geht die Ausführung einer Analyse damit nicht so schnell wie mit den sogenannten Tüpfelmethoden, aber immerhin schnell genug, wenn man bedenkt, wie zeitraubend das Filtriren und Waschen, Trocknen, Glühen, Wägen eines Niederschlages ist. —

Mit Hilfe dieses Asbesttropfenfilters wurde in folgender Weise versucht, die Zusammensetzung der Niederschläge zu ermitteln. Eine Lösung von hippursaurem Kalk von bestimmtem Gehalte wurde mit einer Eisenlösung von bekanntem Gehalte so lange versetzt, bis keine Fällung im Asbesttropfenfilter mehr eintrat. Sodann wurde filtrirt und ein aliquoter Theil des sauren Filtrats mit titr. Amm.-Lösung auf blau titrirt. Hiedurch erfährt man, wie viel Hippursäure in Lösung gegangen und wie viel hiernach in dem Niederschlage enthalten ist. Dieser kann nach dem Auswaschen weiter untersucht werden, wie er durch Wasser zersetzt wurde. —

Da die früher bereitete neutrale Eisenchloridlösung nach längerem Stehen unter Abscheidung eines Niederschlages zersetzt war, (die basischen Eisenchloride waren alle noch klar und unzersetzt) wurde zunächst eine neue Lösung hergestellt und statt mit Wasser, mit concentrirter Kochsalzlösung verdünnt. Diese blieb übrigens auch nicht länger als die mit Wasser verdünnte unzersetzt. Die Eisenbestimmung wurde hier mit essigsaurem Natron vorgenommen. —

Bei Ausführung der Versuche ergab sich, dass die Titration des sauern Filtrats auf blau etwas unsicher ist in Folge der geringen Menge hippursauren Eisens, das in Lösung bleibt. (Es wurde übrigens jedesmal dann abgelesen als eben eine

Aenderung des rothen Lakmusfarbstoffes begann. Zu einer bleibenden Aenderung der Farbe in *Roth* waren immer noch einige CC. Ammonflüssigkeit nöthig). Ferner ist die freie Hippursäure in einer concentrirten Salzlösung weniger löslich als in Wasser; das Filtrat wird allerdings erst beim Schütteln trübe von Hippursaure-Krystallen; es könnte aber auch unter Umständen kryst. Hippurs. beim *Niederschlage* sein.

Die Menge des in Lösung gehenden Eisensalzes ist sehr verschieden je nach der Concentration d. h. je nach dem Salzgehalt der Flüssigkeit. Wegen dieser Unsicherheit der genauen Bestimmung der freien Hippursäure im Filtrate war die ausgeführte Versuchsreihe nicht brauchbar für Ermittelung der Zusammensetzung des Niederschlages. Desshalb mag die ausführliche Mittheilung dieser Versuchsreihe unterbleiben. Sie zeigte aber entschieden, dass, je verdünnter die Flüssigkeit, d. h. je ärmer an Salzen sie ist, desto eher das Niederfallen von hippursaurem Eisenoxyd aufhört, desto früher (vor völliger Ausfällung) das Filtrat auf Eisen Reaktion gibt und desto mehr freie Säure in dem Filtrate sich findet; wenigstens bedarf man zur Neutralisation mehr Ammoniakflüssigkeit. Der Niederschlag wird also demnach um so basischer sein, je weniger die Flüssigkeit Salze enthält. Es wurde ferner constatirt, dass eine gesättigte Kochsalzlösung auch bei sehr verschiedenem Gehalte an hippursaurem Salz stets relativ die gleiche Menge neutr. Eisenchlorids bedarf zur völligen Ausfällung, und dass in einer solchen Flüssigkeit der Niederschlag sehr wenig löslich ist.

Es wurden je 100 CC. der hippursauren Kalklösung ($^1/_{10}$ Norm.) mit neutraler Eisenchlorid-Lösung, von welcher 1 CC. 0,007507 gr. Fe_2O_3 entsprach, gefällt und dazu verbraucht bis zur völligen Ausfällung:

wenn unverdünnt . . . . . 34,6 CC.
„ mit 100 CC. aqua verdünnt . . . . . 34,6 „
„ „ 100 „ conc. Kochsalzlösung . . . 36 „
„ „ 100 „ halbgesättigter Kochsalzlösung 35,6 „
„ „ 200 „ Wasser . . . . . 29,2 „
„ „ 200 „ halbgesättigter Kochsalzlösung 32 „
„ „ 400 „ gesättigter Kochsalzlösung . 36 „
„ „ 1000 „ gesättigter Kochsalzlösung . 36 „

Bei Bestimmung der freigewordenen Hippursäure war, wie erwähnt, die geringe Menge Eisensalz, welche in Lösung war, hinderlich. Würde man nur etwa zur Hälfte ausfällen, so wäre im Filtrat kein Eisen (wegen der völligen Unlöslichkeit des hippursauren Eisenoxyds in hippursaurer Salzlösung) und man könnte die Bestimmung durch Titration mit $^1/_{10}$ Ammon. leicht ausführen.

100 CC. $^1/_{10}$ N. hippursaure Kalklösung, verdünnt mit 100 CC. gesättigter Kochsalzlösung wurden mit 18 CC. Eisenchloridlösung (36 CC. würden zur Ausfällung bis zum Aufhören eines Niederschlages ausgereicht haben) versetzt; vom Filtrat erfordern 100 CC. zu völliger Neutr. 5,7 CC. $^1/_{10}$ Ammon.-Flüssigkeit, demnach zu 218 CC. (dem ganzen Filtrat) 23,8 CC. Es wurden also 23,8 % Hippursäure frei. Bei einem zweiten Versuche (wobei mit Kochsalz gesättigt wurde) erhielt man 24 % freie Hippursäure.

Beim Auswaschen der Niederschläge trübt sich das durchgelaufene Waschwasser und setzt einen Niederschlag ab.

Es wurden 3 solche Niederschläge völlig ausgewaschen und auf ihren Eisengehalt geprüft. Der Niederschlag, erhalten aus hippursaurer Kalklösung, welche mit dem gleichen Volum halbgesättigter Kochsalzlösung vermischt war, gab 23,05 % Fe_2O_3. — Der aus der unverdünnten $^1/_{10}$ Normallösung ergab 22,13 %, und der aus der mit Wasser verdünnten hippursauren Kalklösung 22,38 % Fe_2O_3. —

Die getrockneten und gewogenen Niederschläge wurden zur Erreichung möglichst genauer Resultate vorher auf einem Filter mit Ammon ausgewaschen, um den grössten Theil der Hippursäure zu entfernen. — Uebergiesst man auf dem Filter das hippursaure Eisen mit Salzsäure, so findet man im Filtrat (dem Eisenchlorid) sehr wenig Hippursäure; sie bleibt auf dem Filter zurück. Der sehr voluminöse Niederschlag des hippursauren Eisenoxyds verliert rasch sein Volumen.

Auf solche Weise lässt sich also die Hippursäure aus dem Eisenniederschlage leicht gewinnen. Für die Darstellung der Säure aus Harn ist diess Verhalten von Wichtigkeit. —

II. Quantitative Bestimmung der Hippursäure im Pferd- und Rindvieh-Harn.

Unter Zugrundlegung der im Vorstehenden gewonnenen Resultate wurde nunmehr versucht, auch in der Harnflüssigkeit der Pflanzenfresser Hippursäure auf titrimetrischem Wege zu bestimmen. — Der frische Harn, der sich sehr bald trübt, kann nicht verwendet werden, wenn man nur etwa zuvor die kohlensauren Salze durch Säure neutralisirt hat. Er enthält noch zu viele Bestandtheile, die auf Eisenchlorid chemisch wirken. Das beste Mittel aus demselben diese, sowie die Kohlensäure zu entfernen, ist Kalkmilch, mit Chlorcalciumlösung versetzt. Der Harn ist mit einer gemessenen Quantität dieser Flüssigkeit so lange zu versetzen, bis er anfängt, ganz klar sich abzusetzen. Der kohlensaure und Aetzkalk nimmt allen Schleim etc. und einen grossen Theil des Farbstoffes mit sich. Bei grösserem Gehalte an Hippursäure wird es überdiess gut sein, mit Wasser zu verdünnen. So vorbereitet kann derselbe sofort nach Neutralisation für die Titrirung verwendet werden. Noch reiner erhält man denselben, wenn man vorher Kohlen-

säure in die alkalische Flüssigkeit einleitet und zum Kochen erhitzt.

Versetzt man diesen Harn mit einigen Tropfen Eisenchlorid, so entsteht ein Niederschlag, der wieder verschwindet und erst nach Zugabe von mehr Eisenchlorid bleibt. Auch im *alkal.* Harn bringt Eisenchl. nicht sogleich einen bleibenden Niederschlag hervor. Offenbar besitzt der Harn vermöge der vorhandenen organischen Substanzen ein grösseres Lösungsvermögen für Eisensalze. Natürlich reagirt auch der Harn sofort auf Eisen. Eine Methode, die sich auf die Eisenreaction gründet, könnte von vorneherein hier nicht angewendet werden, was bei einem hippursaurem Salze allenfalls nach Sättigung mit Kochsalz noch anginge, obschon die Eisenreaction hier etwas *vor* völliger Ausfällung eintritt. Wenn der Harn mit Kochsalz gesättigt ist, so bringt auch schon der erste Tropfen von verdünnter Eisenchlorid-Lösung einen bleibenden Niederschlag hervor. Aber auch in diesem Falle ist die Eisenreaction meist schon vorhanden. Denn in Kochsalzlösung ist der Niederschlag nicht völlig unlöslich, aber doch in geringerer Menge als im Wasser. Durch die organische Substanz wird die Löslichkeit noch um ein Geringes vermehrt.

Die Titration wird auf die früher beschriebene Art zu Ende geführt. Die titrirte Eisenlösung stellt man sich am einfachsten dar, indem man sie auf $\frac{1}{10}$ normal-hippursaure Kalklösung stellt, die man erhält durch Neutralisiren von 17,9 krystallisirter reiner Hippursäure mit 5,0 gr. kohlensauren Kalkes unter Zugabe von Kochsalz. Ein Uebermass ist zu vermeiden, da sich sonst ein krystallisirter Niederschlag bildet. Nach längerer Zeit ist zwar die verdünnte Eisenchlorid-Lösung zersetzt; man kann sich aber sehr schnell und leicht wieder eine neue Lösung titriren. Mehrere Wochen bleibt sie indess brauchbar, wenn man dieselbe nicht gar zu verdünnt dar-

stellt. 100 CC. der hippursauren Kalklösung erforderten von der Eisenlösung 36 CC. bis zur Beendigung der Ausfällung im Asbestfilterchen.

Der zuerst fallende Eisenniederschlag ist schmutzig röthlichgelb gefärbt, später wird die Farbe reiner. Es wird also auch Farbstoff (wohl nur mechanisch) mitgerissen. Diesen Farbstoff vorher aus dem Harn zu entfernen, wurde auf verschiedene Weise versucht. — Am leichtesten schien es noch mit Eisenchlorid selbst zu gehen, wenn dieses zu dem stark alkalischen Harne gesetzt wird mit der Vorsicht, ihn nicht neutral werden zu lassen. Es gelingt zwar, den Farbstoff auf solche Weise ziemlich zu entfernen, leider geht aber auch Hippursäure in den Niederschlag. Jedenfalls darf man in dieser Weise nicht weit gehen, ohne den Hippursäuregehalt merklich zu verringern. Essigsaures und salpetersaures Blei, das Stohmann und Henneberg angewendet haben zur Entfernung des Farbstoffes, geben mit hippursauren Salzen selbst nach einiger Zeit Niederschläge, können also hier nicht angewendet werden. Sofern dieser Farbstoff beim Niederfallen nicht selbst Eisenchlorid beansprucht, ist eine Entfernung auch nicht nothwendig. Leider lässt sich diess experimentell nicht direkt festsetzen. Es wird sich aber bei Vergleichung der neuen Bestimmungs-Methode von Hippursäure im Harn mit den älteren, bisher angewendeten, zeigen, bis zu welchem Grade diess etwa der Fall ist. Henneberg und Stohmann benützten bei ihren Untersuchungen über den Hippursäure-Gehalt des Harns folgendes Verfahren: 200 CC. Harn wurden im Wasserbade bis auf 50 gr. eingedampft, mit 20 CC. Salzsäure versetzt, längere Zeit in der Kälte stehen gelassen, die ausgeschiedenen Krystalle gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, bis das Filtrat farblos ablief und dann bei 100° C. getrocknet. Das Volumen des Waschwassers wurde bestimmt, und nach dem

Verhältnisse der Löslichkeit der Hippursäure im Wasser $^1/_{100}$ eine Correction angebracht, nämlich für je 6 CC. Filtrat 10 Milligr. Hippursäure zu der auskrystallisirten hinzuaddirt. —

Demgemäss wurden 200 CC. nach Reinigung mit Kalkmilch etc. abgedampft, mit Salzsäure versetzt u. s. w. Das Waschwasser und Filtrat betrugen 102 CC., demnach wurden zu 1,275 gr. Hippursäurekrystallen noch 170 Milligr. addirt. Im Ganzen wurden 1,445 gr., das ist 0,722 % Hippursäure erhalten. — Von demselben Harne wurden 100 CC. mit Kochsalz gesättigt, genau neutralisirt und mit der titrirten Eisenchloridlösung versetzt, von der jeder CC. 0,04972 gr. Hippursäure entsprach. Mit 37 CC. war die Probe völlig ausgefällt. Demnach müssen in den 100 CC. 1,83964 gr. gewesen sein. Es wird sonach bei der Titrirung ein weit grösserer Gehalt an Hippursäure in 100 CC. gefunden, als nach der andern Methode. —

Es schien fast nicht möglich, dass der Farbstoff alleinig so bedeutende Differenzen verursachen sollte, wenn er auch wirklich nicht bloss mechanisch mitgerissen würde, sondern selbst mit Eisenoxyd eine Verbindung einginge. Es lag daher nahe, an andere Säuren zu denken, die mitgefällt werden. Von solchen, hier in Betracht kommenden Säuren ist bis jetzt nur *Bernsteinsäure* von Meissner aufgefunden worden. Ich prüfte zunächst auf diese. Behandelt man den Niederschlag von hippursaurem Eisenoxyd (auch benzoes.) ohne vorher auszuwaschen, mit Weingeist, so löst er sich vollständig auf; beigemengte andere Salze bleiben auf dem Filter und können nachher durch Wasser gelöst werden. Bernsteinsaures Eisenoxyd ist im Weingeist unlöslich. — Auch wurde eine gemischte Lösung eines bernsteinsauren und hippursauren Salzes gefällt und der Niederschlag auf seine Löslichkeit im Weingeist geprüft; er löste sich nur theilweise, das bernsteinsaure

Eisen blieb auch hier ungelöst. — Der aus Harn dargestellte Eisenniederschlag löste sich vollständig auf, enthielt also keine Bernsteinsäure. (Ein ausgewaschener Niederschlag von hippursaurem Eisenoxyd löst sich in Weingeist nicht mehr vollständig). Man hat also die Möglichkeit, den Niederschlag auf Bernsteinsäure leicht prüfen zu können. Eventuell wird man auch leicht die Trennung und weitere quantitative Bestimmung vornehmen können, indem man das schliesslich bleibende bernsteinsaure Eisenoxyd auf dem Filter trocknet und wägt.

Die erwähnten Verhältnisse machten mir die von Henneberg und Stohmann befolgte Methode etwas verdächtig, und ich ging an die nähere Prüfung derselben.

500 CC. Pferdeharn (wie oben angegeben gereinigt) wurde auf etwa 100 CC. eingeengt und mit Salzsäure ausgefällt. Das Filtrat und das Waschwasser betrugen 190 CC, darin konnten nach der Annahme Hennebergs, Stohmanns und Rautenbergs noch 0,31 gr. Hippursäure enthalten sein. Es wurde diese Flüssigkeit mit Kalk neutralisirt und mit Eisenchlorid versetzt; es wurde ziemlich viel Niederschlag erhalten. Das Filtrat hievon wurde abermal neutralisirt und wieder gefällt. Die vereinigten Niederschläge wurden mit Salzsäure behandelt, die zurückbleibende Hippursäure, bei 100° C. getrocknet, wog 1,6 gr. Da sie sehr unrein aussah, wurde sie in Ammoniak gelöst und der unlösliche Rückstand getrocknet und gewogen und 0,6405 gr. von 1,6 gr. abgezogen. Es war demnach aus dieser Flüssigkeit auf solche Weise noch über 1 gr. herzustellen. Jedenfalls ist nicht einmal alle Säure auf solche Weise gewonnen worden. Daraus geht offenbar hervor, dass die Bestimmungen nach Hennebergs und Stohmanns Methode um ein Bedeutendes zu niedrig ausfallen. Genauer dürfte die Bestimmung der Hippursäure nach der von Liebig angewendeten, von Weissmann etwas modifizirten Methode, ausfallen,

und desshalb wurde weiterhin auch die Vergleichung mit dieser Methode unternommen. — „Man verdampft eine gemessene Quantität Harn bis beinahe zur Trockene, versetzt mit Salzsäure und schüttelt ihn wiederholt mit dem 6- bis 10fachen Volumen reinen alkoholfreien Aethers aus. Man giesst die ätherische Lösung ab, lässt verdunsten und wägt die zurückbleibenden Hippursäurekrystalle. Dieselben sind stets gefärbt; das verschwindend kleine Gewicht der färbenden Substanz beeinträchtigt aber die Richtigkeit des Resultates nicht in erheblicher Weise.“ (Weissmann.) Kolbe's Lehrbuch der org. Chemie 2. Bd. p. 115.

Es wurden 50 CC. Harn nach dieser Methode behandelt, nur mit dem Unterschiede, dass schliesslich die unreinen Hippursäurekrystalle nochmals mit Ammoniak gelöst und mit Salzsäure ausgefällt wurden. Hiedurch war natürlich ein kleiner Verlust unvermeidlich. Es wurden 0,7345 gr. Hippursäure erhalten. Durch Titration war in derselben Menge des gleichen Harns 0,8949 gr. gefunden. Zur weiteren Vergleichung wurden noch folgende Versuche gemacht.

20 CC. frischer Pferdeharn, wie früher beschrieben, mit Kalkmilch behandelt, wurden beinahe zur Trockene im Wasserbade eingedampft, mit Salzsäure versetzt und mit Aether ausgezogen. Es wurde 0,26 gr. braungefärbte Krystalle erhalten d. i. 1,3 %: der ausgeschüttelte Rückstand wurde neutralisirt und mit Kochsalz versetzt. Eisenchlorid brachte darin noch schwache Fällung hervor, schien also nicht völlig mit Aether erschöpft gewesen zu sein. —

Eine zweite Probe, ebenso behandelt, gab nach circa *15maligem* Ausschütteln mit Aether 0,35325 gr. d. i. 1,767 %; der Rückstand gab mit Eisenchlorid eine kaum merkliche Trübung. 50 CC. desselben Harns wurden neutralisirt, mit Kochsalz versetzt und gefällt. Mit 18 CC. der Eisenchlorid-

lösung war die Fällung beendet. Das 1 CC. der Eisenchlorid-Lösung = 0,04972 Hippursäure entspricht, so enthielt der Harn hienach 1,78 % Hippursäure. 100 CC. desselben Harns wurden bis auf ein geringes Volumen abgedampft, mit Salzsäure versetzt. Die erhaltenen Krystalle nach Stohmann gewaschen, gewogen, betrugen inclus. der Correktion 0,6140 gr., sie enthielten aber 0,12875 gr. Asche. Also sind nur 0,4793 gr. zu rechnen. Die Correktion betrug hier 0,060 gr., da das Filtrat 36 CC. ausmachte. In Wirklichkeit musste aber dieses bedeutend mehr Hippursäure enthalten. Um sie möglichst zu gewinnen und zu bestimmen, wurde mit Eisenchlorid ausgefällt, der Niederschlag mit Salzsäure behandelt. Die Ausscheidung von Hippursäure erfolgte aber in eigenthümlicher Weise: nämlich eine zähe, harzartige Masse blieb auf dem Filter, die sich überdiess noch zum grössten Theile löste. Es wurden noch mehrere Proben von demselben Harn ohne Erfolg ähnlich behandelt.

Eine weitere Versuchsreihe mit einem andern Harn ergab Folgendes: *100* CC. erforderten zu völliger Ausfällung 34 CC. Eisenchlorid-Lösung d. i. 1,69 % Hippursäure. *100* CC. wurden neutralisirt, verdampft, zum Rückstand 20 CC. Salzsäure zugesetzt. Die erhaltenen Krystalle wogen 0,4940 gr. inclus. der Correktion für 30 CC. Filtrat zu 0,05 gr. Dieselben hinterliessen 0,138 gr. Asche; folglich sind nur 0,356 gr. zu rechnen.

Das Filtrat wurde wieder mit Eisenchlorid gefällt; der Niederschlag aber mit Ammon und Schwefelammon, das Filtrat mit Kalk zur Entfernung des Ammoniaks behandelt und schliesslich mit Salzsäure versetzt. Es schieden sich nach längerem Stehen wohl einige Krystalle am Boden aus, obenauf aber ölige Tropfen. Das Ganze wurde jetzt mit Aether ausgezogen und noch 0,580 gr. braune krümmelige

Hippursäure erhalten. — Ferner wurden 100 CC. bis auf einen geringen Rest abgedampft, mit Salzsäure ausgefällt, die erhaltenen Krystalle betrugen jetzt

0,5090 gr., sie enthielten

an Asche 0,0117 gr.

somit sind = 0,4973 gr. zu rechnen;

hiezu die Correktion für 41 CC. Filtrat mit 0,07 gibt 0,5673 gr. Hippursäure. Das Filtrat wurde diessmal neutralisirt, eingedampft, wieder angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Es wurde noch erhalten 0,7723 gr. Säure. Mit den Krystallen wurden hienach im Ganzen gewonnen 1,2696 gr. Auffallender Weise bleibt hier die Gesammtmenge der erhaltenen Hippursäure hinter der durch Ausziehen mit Aether allein gewonnenen Quantität des nächsten Versuches zurück. — 100 CC. Harn wurden nahezu zur Trockene eingedampft, mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Es wurden erhalten: 1,50 gr. Säure.

Das Ausschütteln mit Aether muss sehr anhaltend und oft geschehen. Die Masse erschöpft sich sehr langsam. Nach dem Verdunsten des Aethers ist die rückständige braune Masse längere Zeit amorph; man möchte sie kaum für krystallisirbar halten; aber nach einiger Zeit wird sie krystallinisch und erscheint dann auch nicht mehr so sehr verunreinigt. Weissmann betrachtet die mit Aether noch ausgezogenen Verunreinigungen (Farbst.) für nicht nennenswerth.

Die Resultate der Methode nach Weissmann (Liebig) und die Titrirmethode stimmen ziemlich überein; die Resultate der Methode nach Stohmann weichen von beiden erheblich ab und stimmen auch unter sich nicht immer. Die Correktion ist viel zu niedrig gegriffen, da ja im Filtrat viel mehr Hippursäure zu finden ist. — Mit Menschenharn wurden vergleichende Versuche vor der Hand noch nicht angestellt. Derselbe gibt,

in gleicher Weise, wie Pferdeharn behandelt, sehr wenig Niederschlag mit neutralem Eisenchloride.

III. Darstellung der Hippursäure durch Fällen mit Eisenchlorid.

Unleugbar hat das Abdampfen grösserer Mengen von Pferde- oder Rinderharn zum Zwecke der Gewinnung von Hippursäure sehr grosse Unannehmlichkeiten in Folge des unangenehmen, durchdringenden und lange anhaftenden Geruches.

Aus dem Vorausgehenden ergibt sich die Möglichkeit einer anderen Methode der Darstellung, die nicht mit derartigen Unbequemlichkeiten verbunden ist, von selbst. Der Harn wird, wie dort beschrieben, mit Kalkmilch geklärt, neutralisirt und mit Eisenchlorid unter Vermeidung eines zu grossen Ueberschusses gefällt. Den voluminösen Niederschlag sammelt man auf einem Spitzbeutel. Die Flüssigkeit geht nach wiederholtem Zurückgiessen bald klar hindurch. Da sie noch freie Hippursäure enthält, wird sie nochmal neutralisirt und abermals gefällt und das Filtrat etwa nochmal so behandelt. Da das anfangs gefällte Eisensalz die grösste Menge des Farbstoffes enthält, ist es wohl zweckmässig, zuerst eine kleine Menge Eisenchlorid zu zusetzen, diesen Niederschlag zu beseitigen und im Filtrat erst die vollständige Ausfällung vorzunehmen. Zur Abscheidung der Hippursäure aus dem Niederschlage können Säuren oder Kalk, Natron angewendet werden. Ich ziehe die Säure entschieden vor. Behandelt man nämlich das Eisensalz mit Kalk, so hat man mit dem ebenfalls sehr voluminösen Eisenoxydhydrat zu thun.

Uebergiesst man aber den Niederschlag mit Salzsäure, so verliert derselbe sofort sein grosses Volumen. Nachdem

das Eisenchlorid abgelaufen und der Rückstand im Spitzbeutel etwas nachgewaschen worden, löst man ihn durch Kalkzusatz, setzt mangansaures Natron zur erhaltenen gefärbten Lösung bis die grösste Menge des Farbstoffes zerstört ist, beendet die Entfärbung mit Thierkohle und versetzt die nahezu farblose Flüssigkeit mit reiner Salzsäure. Es ist ein sehr schöner Anblick, die langen weissen Nadeln von Hippursäure in Büscheln aus der Flüssigkeit rasch anschiessen zu sehen. — Das erhaltene Eisenchlorid kann wieder verwendet werden. Es enthält wohl hippursaures Eisenoxyd in Lösung; um überschüssige Salzsäure in demselben für die Wiederverwendung unschädlich zu machen, gibt man vorher hippursaures Eisen im Ueberschuss hinzu.

Auf diese Art habe ich mir grössere Quantitäten Hippursäure ziemlich rasch im Laboratorium ohne besondere Belästigung hergestellt.

Die Gewinnung des Harns ist nicht bei allen Pferden leicht. Viele Pferde haben die Gewohnheit bald nach ihrem Eintritt in den Stall zu harnen und lassen sich durch das Unterhalten eines Schäffels nicht irre machen. Von solchen kann man leicht täglich ein ziemliches Quantum erhalten. Man gibt in die Flasche schon vorher eine genügende Menge Kalkmilch und kann dann der Harn auch einige Zeit ohne Zersetzung der hippursauren Salze aufbewahren. Andernfalls tritt bald Zersetzung ein. —

IV. Bestimmung und Darstellung von Benzoesäure aus gefaultem Harn.

Die Bestimmung von Benzoesäure in reinen Salzlösungen wurde in ganz analoger Weise wie bei der Hippursäure ausgeführt. 12,2 gr. reine Benzoesäure wurden mit 5 gr. kohlen-

sauren Kalkes neutralisirt und zum Liter aufgefüllt. 100 CC. dieser $\frac{1}{10}$ Normallösung wurden mit verdünnter neutraler Eisenchlorid-Lösung versetzt. Es waren 40 CC. zur völligen Fällung nöthig. Die Reaktion auf Eisen trat im Filtrat nach Zusatz von 39 CC. auf. Zu dem Filtrat wurden wieder 3 CC. benzoesaure Kalklösung gesetzt und nochmal filtrirt. 100 CC. des Filtrats wurden mit einer $\frac{1}{10}$ Normal-Ammoniakflüssigkeit auf blau titrirt. Auf die ganze Menge Flüssigkeit berechnet, waren hiezu 18,6 CC. erforderlich. Hienach ist etwas weniger als $\frac{1}{5}$ der Benzoesäure frei geworden. Im Filtrat sind bald nach dem Abfiltriren Flocken krystallisirter Benzoesäure bemerkbar gewesen. 100 CC. der $\frac{1}{10}$ Normallösung des benzoesauren Kalkes wurden mit 100 CC. Wasser verdünnt. Nach Zusatz von 38 CC. Eisenchlorid trat bereits keine weitere Fällung mehr ein. Zur Neutralisation des Filtrats waren 19,5 CC. Ammon. nöthig. Wurde mit 400 CC. Wasser verdünnt, so war die Fällung nach Zusatz von 36 CC. Eisenchlorid-Lösung bereits beendet. Das Filtrat erforderte 21 CC. $\frac{1}{10}$ Ammon. zur Neutralisation.

Wurde statt Wasser Kochsalzlösung genommen, so zeigte sich die Fällung erst nach Zusatz von 42 CC. beendet. — Auch bei Anwendung von nicht zu basischen Eisenchloriden tritt freie Säure auf. Benzoesaures Eisenoxyd wird nicht so leicht im Wasser gelöst, oder von demselben zersetzt wie das hippursaure Eisenoxyd. Der Zusatz von Kochsalz macht aber auch hier die Titration leichter und genauer. Ferner ist zu bemerken, dass Eisenchlorid eine Lösung freier Benzoesäure fällt. Der bei völliger Ausfällung erhaltene Niederschlag ist daher jedenfalls ein Gemenge zweier verschieden zusammengesetzter Eisensalze. Im gefaulten Harn kann durch eine auf reine benzoesaure Kalklösung gestellte Eisenchloridflüssigkeit der Gehalt an Benzoesäure in ganz gleicher Weise festgestellt werden. Bei der Klärung des Harns mit Kalkmilch muss aber

genug Chlorcalcium zugegeben und nachher Kohlensäure eingeleitet werden, um das Ammon zu beseitigen, welches mehr Farbstoff in Lösung hält als Kalkhydrat.

Bekanntlich wird die Gewinnung der Benzoesäure aus Harn seit einiger Zeit an vielen Orten im grossen Massstabe betrieben. Der Harn wird hiebei mit Kalk in mehr oder minder rationell angelegten Eindampfpfannen bis zu $\frac{1}{3}-\frac{1}{4}$ des ursprünglichen Volumens eingedampft und nach dem Erkalten mit Salzsäure die Benzoesäure ausgefällt. Die Resultate sind hiebei nicht immer gleich in Folge des zeitweilig geringen Gehaltes des Rinderharns an Hippursäure. — Wenn der Harn auch nur einige Tage in den Aufsammelgruben vor den Stallungen gestanden hat, ist die Hippursäure in Benzoesäure verwandelt. — Am zweckmässigsten ist es, den Harn vor dem Eindampfen in grösseren Bottichen vollständig mit Kalkmilch zu klären.

Die erhaltene rohe Benzoesäure wird nach dem Trocknen durch Sublimation gereinigt. Die hiezu gebräuchlichen Einrichtungen der Technik sind sehr einfach. Ein flacher eiserner Topf wird von unten durch ein mässiges Feuer erhitzt. Er passt in den kreisförmigen Ausschnitt des Bodens eines gutgefugten Holzkastens von mässigen Dimensionen. Durch eine seitlich angebrachte verschliessbare Oeffnung wird der Topf entleert und von Neuem beschickt. Haben die in der Kiste sich sammelnden Krystallnadeln nicht die verlangte Weisse, so werden sie nochmal sublimirt.

Das Abdampfen des Rinderharns ist im Allgemeinen und im Durchschnitt rentabel Zeitweilig (bei Kleefütterung etc.) aber wegen des geringen Gehaltes des Harns an Hippursäure nicht. Natürlich ist die Umgebung einer solchen Abdampfhütte von dem durchdringenden Geruche sehr belästigt. Eine Methode, die das Abdampfen umgeht, wäre gewiss von gros-

sem Vortheile, vorausgesetzt, dass sie billiger ist. Wird der gefaulte Harn mit Säure ohne weiters neutralisirt, und dann mit Eisenchlorid gefällt, so gelingt es nicht, aus dem erhaltenen Niederschlag die Benzoesäure leicht abzuscheiden. Es fällt eine schleimige klebrige Masse mit. Erst nach sorgtältiger Klärung mit Kalk ist die Gewinnung möglich. Indess ist die zur Neutralisirung des mit Kalk behandelten Harnes erforderliche Menge von Säure keineswegs unbeträchtlich und die Rentabilität des Verfahrens hauptsächlich davon abhängig, diese Quantität auf ein Minimum zu beschränken. Die alkalische Reaktion des präparirten Harnes rührt her von dem zugesetzten Kalk, dann aber auch von Ammon und vielleicht Alkalien. Durch Kohlensäure kann sowohl der Kalk als auch die (kohlensauren) Alkalien unschädlich gemacht werden, letztere eben nach Zusatz von schwefelsaurem Kalk oder Chlorcalcium, weil sich die kohlensauren Alkalien mit den genannten Kalksalzen umsetzen. Nach Entfernung des ausgeschiedenen kohlensauren Kalkes, was mehrstündiges Stehen erfordert, ist die Flüssigkeit nur mehr wenig alkalisch.

Kohlensäure lässt sich aber billig durch Verbrennen von Koks erzeugen und durch folgende einfache Vorrichtung in den alkalischen Harn hineinbringen. Ein gewöhnlicher Ofen mit Rost mündet mit dem Abzugsrohr in einen hohen Kasten von Holz oder Blech. Etwas über der Einströmmungsmündung ist ein durchlöcherter Boden angebracht. Der Raum über demselben wird mit Koksstücken gefüllt. Während im Ofen ein mässiges Koksfeuer unterhalten wird, lässt man die Flüssigkeit über die Koksstücke langsam herabgehen; sie sammelt sich in einer unterhalb stehenden Kufe und kann von da wieder aufgegossen, beziehungsweise aufgepumpt werden. Der hohe Kasten wirkt zugleich als Schornstein und zwar wegen der raschen Abkühlung der Verbrennungsgase durch die

Flüssigkeit und dadurch bewirkte Contraction ziemlich gut. — Zur Erkennung der vollständigen Ausfällung kann man sich eines mit Blutlaugensalz getränkten Papiers bedienen. Diess ist nicht gerade empfindlich, aber eben desshalb für die technischen Zwecke ganz wohl brauchbar. Der Niederschlag aus dem so präparirten Harn wird auf grossen Spitzbeuteln abtropfen lassen. Die klare ablaufende Flüssigkeit wieder neutralisirt und nochmals gefällt.

Nachdem der Niederschlag möglichst abgetropft ist, nimmt man ihn von den Spitzbeuteln und versetzt mit Säure im Ueberschuss. Die ungelöst ausgeschiedene Benzoesäure trennt man von dem Eisenchlorid durch Leinwand, wäscht sie etwas nach und presst aus. Das abgelaufene Eisenchlorid ist natürlich sehr sauer, man gibt in dasselbe einen Ueberschuss von benzoesaurem Eisen, lässt absitzen und verwendet es sodann für eine neue Fällung.

Aus dem Presskuchen wird nach dem völligen Austrocknen durch Sublimation die Benzoesäure gewonnen. Wegen der beigemengten Unreinigkeiten geht die Sublimation nicht so rasch von Statten, als bei roher Benzoesäure die durch Salzsäure aus dem eingedampften Harne ausgefällt wurde; vortheilhafter wird es wahrscheinlich sein, diese Masse mit überhitztem Wasserdampf zu sublimiren. — Man kann aber auch eine concentrirte Kalklösung daraus herstellen und mit Salzsäure wieder ausfällen; die erhaltenen Presskuchen von Benzoesäure sind sodann zum Sublimiren wohl geeignet. Eine Reduction des Eisenchlorids zu Chlorür durch die organische Substanz des Harns findet während der Operation nicht in erheblichem Grade statt.

Ein einsichtiger, rationeller Landwirth mag sich immerhin besinnen, seine Jauche der Industrie zur Darstellung von Benzoesäure abzulassen, da er davon etwa nur noch den

Kalkrückstand für seine Zwecke verwerthen hann. Die restirende saure Flüssigkeit von der Fällung der Benzoesäure durch Salzsäure oder Eisenchlorid ist der Vegetation auch nach Neutralisation mit Kalk nachtheilig. — Die Methode der Fällung lässt sich indess leicht auch so ändern, dass der Harn sogar noch an Werth gewinnt. Nimmt man nämlich statt Eisenchlorid schwefelsaures Eisenoxyd und zur Zersetzung des Niederschlages Schwefelsäure, so ist die ablaufende Flüssigkeit in Folge ihres Gehaltes an schwefels. Verb. etc. für die Landwirthschaft sehr werthvoll, der Niederschlag wird freilich durch mitfallenden Gyps mehr verunreinigt. Auch hat man nach der Fällung einige Zeit zu warten mit dem Aufgiessen auf die Spitzbeutel, da der nach und nach sich ausscheidende Gyps dieselben inkrustirt, so dass das Ablaufen wesentlich verlangsamt wird.

Eisenchlorid oder schwefelsaures Eisenoxyd lässt sich sehr billig darstellen aus Eisenrost, indem man Eisendrehspähne unter öfterem Bespritzen mit Säure sich völlig oxydiren lässt, sodann in der Säure löst.

Uebersicht über die gewonnenen Resultate.

1) Eine neutrale Lösung eines hippursauren Salzes wird sowohl durch neutrales als auch basisches Eisenchlorid unter Freiwerden von Hippursäure gefällt. Die Menge dieser ist um so grösser, daher der Niederschlag um so basischer, je verdünnter die Lösung des hippursauren Salzes war. Der aus concentrirten Lösungen erhaltene Niederschlag wird beim Waschen mit Wasser basischer. Concentrirte Kochsalzlösung zersetzt den Niederschlag nicht und löst ihn auch nur unbedeutend.

In der Lösung eines hippursauren Salzes ist er völlig unlöslich. Entsteht der Niederschlag von hippursaurem Eisenoxyd in einer Flüssigkeit, die mit Kochsalz nahezu gesättigt ist, so bleibt die Menge freiwerdender Säure relativ gleich 24 %. Im Filtrat kann Eisen etwas vor beendigter Fällung nachgewiesen werden. Je ärmer die Flüssigkeit an Salzen war, um so eher gibt sich im Filtrat Eisen zu erkennen. Aehnlich wie hippursaure verhalten sich auch benzoesaure Salze.

2) Im frischen Harne lässt sich mit Anwendung des Asbest-Tropfenfilters die vorhandene Menge von Hippursäure durch neutrale Eisenchlorid-Lösung, die nach $^1/_{10}$ Normal-hippursaurer Kalklösung gestellt ist, titrimetrisch bestimmen, wenn der Harn vorerst mit Kalkmilch geklärt, neutralisirt und mit Kochsalz nahezu gesättigt wurde.

Auf gleiche Weise lässt sich Benzoesäure im gefaulten Harne bestimmen.

3) Die so gewonnenen Resultate stimmen ziemlich gut überein mit denen, welche durch die Methode Weissmann-Liebig (Ausschütteln des ungesäuerten Abdampf-Rückstandes mit Aether) erhalten werden.

Die von Henneberg, Stohmann, Rautenberg angewendete Methode (Ausfällen der Hippursäure aus dem eingedampften Harn durch Salzsäure mit einer Correction nach dem Löslichkeits-Verhältnisse der Hippursäure in Wasser) ergibt den Gehalt viel zu niedrig.

4) Auch die Gewinnung von Hippursäure und Benzoesäure in grösserer Menge gelingt durch Ausfällen mit Eisenchlorid, wenn der Harn vorher durch Kalkmilch

von Schleim etc. gereinigt und dann neutralisirt wird. Aus dem hippursauren und benzoesauren Eisenoxyd lässt sich die freie Säure durch Salzsäure (auch Schwefelsäure) abscheiden. Zur Reinigung verwandelt man die rohe Hippursäure in das Kalksalz, entfärbt und fällt mit Salzsäure. Die rohe Benzoesäure wird durch Sublimation gereinigt. —